

PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁴ : A61K 49/00		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 89/ 06978 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 10. August 1989 (10.08.89)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE89/00069 (22) Internationales Anmeldedatum: 1. Februar 1989 (01.02.89) (31) Prioritätsaktenzeichen: P 38 03 972.9 P 38 03 971.0 (32) Prioritätsdaten: 5. Februar 1988 (05.02.88) 5. Februar 1988 (05.02.88) (33) Prioritätsland: DE (71) Anmelder: SCHERING AG, BERLIN UND BERG- KAMEN [DE/DE]; Müllerstraße 170-178, D-1000 Berlin 65 (DE). (72) Erfinder: STEIN, Michael ; Holsteinische Straße 42, D- 1000 Berlin 31 (DE). HELDMANN, Dieter ; Lindau- er Allee 85, D-1000 Berlin 51 (DE). FRITZSCH, Tho- mas ; Elisenstraße 2, D-1000 Berlin 41 (DE). SIE- GERT, Joachim ; Weddingstraße 5, D-1000 Berlin 65 (DE). RÖSSLING, Georg ;		Oranienburger Chaussee 60 c, D-1000 Berlin 28 (DE). SPECK, Ulrich ; Benediktiner Straße 50, D-1000 Ber- lin 28 (DE). (74) Anwalt: MAIKOWSKI, Michael; Xantener Straße 10, D-1000 Berlin 15 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), AU, BE (europäisches Patent), CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK, FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), HU, IT (europäi- sches Patent), JP, KR, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), NO, SE (europäisches Patent). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelas- senen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Än- derungen eintreffen.</i>	
(54) Title: ULTRASONIC CONTRAST AGENTS, PROCESS FOR PRODUCING THEM AND THEIR USE AS DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC AGENTS (54) Bezeichnung: ULTRASCHALLKONTRASTMITTEL, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND DE- REN VERWENDUNG ALS DIAGNOSTIKA UND THERAPEUTIKA (57) Abstract Ultrasonic contrast agents consisting of microparticles containing amyloses or synthetic biodegradable polymers and a gas and/or a liquid with a boiling point below 60°C, process for producing them and their use as diagnostic or ther- apeutic agents. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft Ultraschallkontrastmittel bestehend aus Mikropartikeln, die aus Amylosen oder syntheti- schen, bioabbaubaren Polymeren und einem Gas und/oder einer Flüssigkeit mit einem Siedepunkt unter 60°C bestehen, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung als Diagnostika und Therapeutika.			

U.S. PTO
10/764294



012204

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
AU	Australien	GA	Gabun	MW	Malawi
BB	Barbados	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BE	Belgien	HU	Ungarn	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	IT	Italien	RO	Rumänien
BJ	Benin	JP	Japan	SD	Sudan
BR	Brasilien	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SN	Senegal
CG	Kongo	LI	Liechtenstein	SU	Soviet Union
CH	Schweiz	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CM	Kamerun	LU	Luxemburg	TG	Togo
DE	Deutschland, Bundesrepublik	MC	Monaco	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		
FI	Finnland	ML	Mali		

- 1 -

Ultraschallkontrastmittel. Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung als Diagnostika und Therapeutika

Die Erfindung betrifft Mikropartikel nach dem Oberbegriff des Patentanspruchs 1, Verfahren zu deren Herstellung und deren Verwendung als Diagnostika und Therapeutika.

5

Es ist bekannt, daß durch periphere Injektion von Lösungen, die feine Gasblasen enthalten, cardiale Echo- kontraste erzielt werden können (Roelandt J, Ultrasound

10

...

Med Biol 8:471-492, 1982). Diese Gasblasen werden in physiologisch verträglichen Lösungen z. B. durch Schütteln, andere Agitation oder durch Zusatz von Kohlendioxid erhalten. Sie sind jedoch hinsichtlich Anzahl und Größe nicht standardisiert und können nur unzulänglich reproduziert werden. Auch sind sie in der Regel nicht stabilisiert, so daß ihre Lebensdauer gering ist. Ihre mittleren Durchmesser liegen meist über Erythrocytengröße, so daß keine Lungenkapillarpassage mit nachfolgender Konstrastierung von Organen wie linkes Herz, Leber, Niere oder Milz möglich ist. Darüberhinaus eignen sie sich nicht für Quantifizierungen, da sich das von ihnen erzeugte Ultraschallecho aus mehreren, nicht voneinander zu trennenden Prozessen wie Blasenentstehung, Koaleszenz und Auflösung zusammensetzt. So ist es z. B. nicht möglich, mit Hilfe dieser Ultraschall-Kontrastmittel über die Messung des Kontrastverlaufs im Myokard Aussagen über die Transitzeiten zu gewinnen. Hierzu sind Kontrastmittel notwendig, deren Streukörper keiner eigenen Kinetik unterliegen.

Daneben gibt es Ultraschallkontrastmittel in Form von Partikeln (Ophir, Gobuty, Mc Whirt, Maklad, Ultrasonic Backscatter from Contrast-producing Collagen Microspheres, Ultrasonic Imaging 2:66-67, 1980). Ferner werden (Ophir, Mc Whirt, Maklad, Aqueous Solutions as Potential Ultrasonic Contrast Agents, Ultrasonic Imaging 1:265-279, 1979 sowie Tyler, Ophir, Maklad, In-vivo Enhancement of Ultrasonic Image Luminance by Aqueous Solutions with High Speed of Sound, Ultrasonic Imaging 3:323-329, 1981) Lösungen höherer Dichte als Ultra-

...

schall-Kontrastmittel eingesetzt. Es ist auch bekannt, Emulsionen als Ultraschall-Kontrastmittel zu verwenden (Mattrey, Andre, Ultrasonic Enhancement of Myocardial Infarction with Perfluorocarbon Compounds in Dogs, Am J Cardiol 54:206-210, 1984).

Es hat sich gezeigt, daß die gasfreien Kontrastmittel insgesamt nur eine geringe Effizienz besitzen. Die gas-
haltigen Zubereitungen haben den Nachteil einer nur ge-
ringen in-vivo Stabilität. Darüberhinaus ist die Größe
der Gasblasen meistens nicht standardisierbar. Aus-
reichende Kontrasteffekte sind im arteriellen Gefäß-
system nach peripher venöser Injektion in aller Regel
nicht möglich.

In den EP A2 123 235 und O 122 624 werden Gasbläschen enthaltende Ultraschall-Kontrastmittel beschrieben, die die Lungenkapillaren passieren können und damit den gewünschten Kontrasteffekt bewirken.

Die EP A2 O 224 934 beschreibt Ultraschall-Kontrastmittel in Form von gasgefüllten Gelatine- oder Albuminhohlkörpern. Nachteilig ist jedoch die Verwendung von körperfremden oder denaturierten körpereigenen Eiweißen wegen des damit verbundenen allergenen Risikos.

Mit keinem der bisher bekannten Ultraschallkontrastmittel gelingt eine Organdarstellung mit ausreichender Signalintensität durch selektive Anreicherung nach i.v. Gabe. Quantifizierungen sind daher z.Z. nicht möglich.

...

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, Ultraschall-
kontrastmittel auf der Basis von Mikropartikeln herzu-
stellen, die neben bestimm- und reproduzierbaren Volumi-
na eine erheblich längere Lebensdauer, als bisher be-
5 kannt, aufweisen, gute Verträglichkeit ohne allergenes
Potential besitzen und intrazellulär in RES und damit
auch in der Leber oder Milz angereichert werden können.

10 Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch Mikropartikel,
die aus Amylosen oder einem synthetischen, bioabbauba-
ren Polymeren und einem Gas und/oder einer Flüssigkeit
mit einem Siedepunkt unter 60° C bestehen, gelöst.

15 Als synthetische, bioabbaubare Polymere sind Polyester
von α -, β -, γ - oder ϵ -Hydroxycarbonsäuren, Polyalkyl-
cyanoacrylate, Polyaminosäuren, Polyamide, polyacry-
lierte Saccharide oder Polyorthoester zu nennen.

20 Als besonders geeignet haben sich

Polymilchsäure,
Poly- ϵ -caprolacton,
Copolymeres aus Milchsäure und Glykolsäure oder
25 ϵ -caprolacton,
Polyhydroxybuttersäure,
Polyhydroxyvaleriansäure
Copolymeres aus Hydroxybutter- und Hydroxyvaleriansäure
30 Polymere aus Glutaminsäure und/oder Lysin,
Polydioxanon
Polymeres oder Copolymeres aus Aminosäuren oder/und
Terephthalsäure, Phthalsäure oder Sebacylsäure,

...

Polyacryldextran,
Polyacrylstärke,
Polyacrylamid,
Polyurethan,
5 Polyester,
Polyacetal,
Polyaminotriazol oder
Polyalkylcyanoacrylate

10 erwiesen.

Stärke oder Stärkederivate können ebenso in den Mikro-
partikeln enthalten sein. Als geeignet haben sich Amy-
15 losen erwiesen, da sich diese Stärkederivate durch gute
Wasserlöslichkeit und der Fähigkeit zur Bildung von
Einschlußverbindungen auszeichnen.

Als besonders geeignete Amylosen sind die Cyclodextrine
20 und deren Derivate, beispielsweise α -, β -, und γ -
Cyclodextrin zu nennen.

Die Mikropartikel enthalten Gase und/oder Flüssigkeiten
mit einem Siedepunkt unter 60° C in freier oder gebunde-
25 ner Form. Die Verwendung eines Gas-Flüssigkeits-Ge-
misches in den Ultraschall-Kontrastmitteln ist ebenfalls
möglich.

30 Als Gase können beispielsweise Luft, Stickstoff, Edel-
gase, Wasserstoff, Kohlendioxid, Ammoniak, Sauerstoff,
Methan, Ethan, Propan, Butan, Ethylen oder andere Koh-
lenwasserstoffe oder deren Gemische verwendet werden.

...

Als einschließbare Flüssigkeiten werden bevorzugt

- 1.1-Dichlorethylen,
- 2-Methyl-2-buten,
- 5 Isopropylchlorid,
- 2-Methyl-1.3-butadien,
- 2-Butin,
- 2-Methyl-1-buten,
- 10 Dibromdifluormethan,
- Furan,
- 3-Methyl-1-buten,
- Isopentan,
- Diethylether,
- 15 3.3-Dimethyl-1-butin,
- Dimethylaminoacetone,
- Propylenoxid,
- N-Ethylmethylamin,
- Brommethan,
- 20 N-Ethyldimethylamin,
- Methylenchlorid,
- Pentan,
- Cyclopentan,
- 2,3-Pentadien,
- 25 Cyclopenten

oder deren Gemische verwendet.

- 30 Mit Vorteil können die Mikropartikel auch Substanzen mit niedrigen Dampfdrücken und/oder niedrigen Siedepunkten, insbesondere ätherische Öle enthalten.

...

Besonders vorteilhaft ist es, die aus Amylosen bestehenden Mikropartikel mit einer Hüllsubstanz zu überziehen. Dabei können die Mikropartikel von Ölen, Fetten und/oder oberflächenaktiven Substanzen umhüllt und in wäßrigem Medium suspendiert sein.

Besonders vorteilhaft ist es, die aus Amylosen bestehenden Mikropartikel mit einer Matrix, insbesondere polymerer Struktur zu umhüllen.

Durch Zugabe osmotisch aktiver Substanzen, beispielsweise Kochsalz, Galaktose, Glukose, Fruktose kann die physiologische Isotonie eingestellt werden.

Die Erfindung betrifft auch Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkontrastmitteln, die aus synthetischen, bioabbaubaren Polymeren bestehen.

Ein vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Ultraschallkontrastmittel besteht darin, daß ein Polymer oder ein Copolymer in einem oder mehreren mit Wasser nicht mischbaren, organischen Lösungsmitteln gelöst und anschließend ggf. nach Zusatz eines weiteren Lösungsmittels in Wasser emulgiert wird und die erhaltende Emulsion anschließend filtriert, ggf. getrocknet wird.

Ein weiteres Verfahren besteht darin, daß ein Polymer oder ein Copolymer in einem oder mehreren Gasblasen enthaltenden Lösungsmitteln gelöst und anschließend

...

ggf. nach Zusatz eines weiteren Lösungsmittels oder eines weiteren Polymeren ausfällt oder in Wasser emulgiert werden und die erhaltende Suspension oder Emulsion anschließend filtriert, ggf. getrocknet wird. Zur
5 Aufarbeitung ist auch das Gefriertrocknungsverfahren geeignet.

10 Mit Vorteil können die erhaltenen Produkte fein gemahlen werden.

Bei den beschriebenen Verfahren werden als Lösungsmittel beispielsweise Furan, Pentan, Aceton, Dioxan, Ethylacetat, Xylol, Methylenchlorid, Cyclohexan oder
15 Hexan oder Lösungsmittelgemische verwendet. Der Emulsion können auch Emulgatoren zugesetzt werden.

In einer anderen Variante des Herstellungsverfahrens wird nicht von einem Polymeren ausgegangen, sondern von
20 Monomeren, aus denen das Polymer gebildet wird. Dabei wird so gearbeitet, daß ein Monomer in einem oder mehreren organischen Lösungsmitteln gelöst und in 5 - 30 Teilen Wasser oder 0,01 - 0,1 N Salzsäure ggf. unter
25 Zusatz von Emulgatoren oder Puffersubstanzen bei einer Temperatur unterhalb des Siedepunkts des organischen Lösungsmittels emulgiert wird und dieser Emulsion eine 0,2% - 20%ige wäßrige Lösung eines zweiten Monomeren oder ggf. die Lösung einer pH-Wert erhöhenden Substanz
30 zugegeben und ggf. getrocknet wird.

Bei einer anderen Arbeitsweise wird ein Monomer in einer oder mehreren gasblasenenthaltenden Flüssigkeiten ggf.

...

unter Zusatz von Emulgatoren oder Puffersubstanzen gelöst oder dispergiert. Zu dieser Lösung oder Dispersion wird ggf. eine 0,2%—20%ige Lösung eines zweiten Monomeren oder eine pH-Wert erhöhende Substanz in gelöster oder gasförmiger Form gegeben und ggf. getrocknet.

Beispielsweise wird als erstes Monomer Terephthaloyl- oder Sebacoylchlorid oder Cyanacrylsäureester, als zweites Monomer L-Lysin und als organisches Lösungsmittel beispielsweise 2-Methyl-1.3-butadien, Dioxan, Methylenchlorid, Toluol oder Cyclohexan verwendet.

Gemäß einem weiteren Verfahren werden die Ultraschallkontrastmittel dadurch hergestellt, daß in einer 0,5—10%igen wäßrigen Lösung oder Dispersion eines Monomeren, die ggf. Zusätze wie Emulgatoren (0,01 - 5 %) oder Quasiemulgatoren (0,1 - 5 %) enthält, Gasblasen erzeugt und danach eine quervernetzende Substanz und/oder ein Reaktionsstarter zugesetzt werden.

Die im vorstehend beschriebenen Ultraschallkontrastmittel können sowohl für diagnostische als auch für therapeutische Verfahren verwendet werden.

Die Applikation der Mittel erfolgt beispielsweise durch Injektionen.

Die Erfindung wird durch folgende Beispiele erläutert:

Beispiel 1:

...

500 mg Polylactid werden in 4 ml Furan und 0,6 ml Cyclohexan gelöst und diese Lösung in 40 ml einer 0,1%igen Lösung von Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymer mit Molekulargewicht 12.000 (Pluronic[®] F 127) enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 15° C gehalten wird. Die Temperatur wird anschließend zur Verdampfung des organischen Lösungsmittels langsam erhöht. Anschließend wird die entstandene Suspension gefriergetrocknet.

Beispiel 2:

300 mg α -Cyanacrylsäurebutylester werden in 1 ml Furan gelöst und diese Lösung in 10 ml 0,1 N Salzsäure, die 1 % Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymer mit Molekulargewicht 12.000 (Pluronic[®] F127) enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 15° C gehalten wird. Nach Abschluß der Polymerisation wird die entstandene Suspension gefriergetrocknet.

Beispiel 3:

200 mg α -Cyanacrylsäurebutylester werden in 0,4 ml Isopren gelöst und in 30 ml 0,01 N Salzsäure, die 1 % Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymer mit Molekulargewicht 8.350 (Pluronic[®] F68) enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 10° C gehalten wird. Nach Abschluß der Polymerisation wird die Suspension mit 0,1 N NaOH neutralisiert und mit Natriumchlorid isotonisiert.

Beispiel 4:

400 mg α -Cyanacrylsäurebutylester werden in 0,4 ml Methylenchlorid gelöst und in 60 ml 0,01 N Salzsäure, die 1 % Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymer mit Molekulargewicht 12.000 (Pluronic® F127) enthält, emulgiert, wobei die Temperatur während des Emulgierens unter 10°C gehalten wird. Nach Abschluß der Polymerisation wird die Suspension mit 0,1 N Natronlauge neutralisiert und mit Natriumchlorid isotonisiert.

Beispiel 5:

400 mg Polycaprolacton werden in 6 ml Furan und 0,3 ml Cyclohexan gelöst und in 60 ml 1% Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymer mit Molekulargewicht 12.000 (Pluronic® F127) emulgiert, wobei die Temperatur unter 15°C gehalten wird. Die Temperatur wird anschließend zur Verdampfung des organischen Lösungsmittels langsam erhöht. Danach wird die entstandene Suspension gefriergetrocknet.

Beispiel 6:

400 mg Terephthalsäuredichlorid werden in 2 ml Furan gelöst und in 50 ml 3%iger Natriumcarbonatlösung, die 0,1 % Polyoxyethylenpolyoxypropylen-Polymer mit Molekulargewicht 12.000 (Pluronic® F127) enthält, emulgiert. Nach Zusatz von 60 mg L-Lysin, in 5 ml 0,1 %iger Pluronic F127 gelöst, werden die Mikrokapseln zentrifugiert und mehrmals mit 0,1 %iger Pluronic F127 Lösung ge-

...

waschen. Vor Gebrauch wird die Suspension mit Natriumchlorid isotonisiert.

Beispiel 7:

5

β -Cyclodextrin-Isopentan-Einschlußverbindung:

10

100 ml gesättigte β -Cyclodextrin-Lösung (1,8%ig) wird auf 10° C gekühlt und mit 3 ml Isopentan versetzt. Unter ständigem Rühren im Ultraschallbad wird der entstehende schwerlösliche Komplex ausgefällt. Durch Gefriertrocknen und Filtrieren wird der Niederschlag in kristalliner Form erhalten. Isopentangehalt nach GC-Bestimmung: 0,26 %

15

Beispiel 8:

β -Cyclodextrin-2-Methyl-2-buten-Einschlußverbindung:

20

100 ml gesättigte β -Cyclodextrin-Lösung (1,8%ig) wird auf 10° C gekühlt und mit 3 ml 2-Methyl-2-buten versetzt. Unter ständigem Rühren im Ultraschallbad wird der entstehende schwerlösliche Komplex ausgefällt. Durch Gefriertrocknen und Filtrieren wird der Niederschlag in kristalliner Form erhalten.

25

Beispiel 9:

30 β -Cyclodextrin-2-Methyl-1-buten-Einschlußverbindung:

100 ml gesättigte β -Cyclodextrin-Lösung (1,8%ig) wird auf 10° C gekühlt und mit 3 ml 2-Methyl-1-buten ver-

...

- 5 setzt. Unter ständigem Rühren im Ultraschallbad wird der entstehende schwerlösliche Komplex ausgefällt. Durch Gefriergetrocknen und Filtrieren wird der Niederschlag in kristalliner Form erhalten. 2-Methyl-1-buten-Gehalt nach GC-Bestimmung: 0,82 %.

Beispiel 10:

- 10 β -Cyclodextrin-Isopren-Einschlußverbindung:

- 15 100 ml gesättigte β -Cyclodextrin-Lösung (1,8%ig) wird auf 10° C gekühlt und mit 3 ml Isopren versetzt. Unter ständigem Rühren im Ultraschallbad wird der entstehende schwerlösliche Komplex ausgefällt. Durch Gefriergetrocknen und Filtrieren wird der Niederschlag in kristalliner Form erhalten. Isoprengehalt nach GC-Bestimmung: 1,0 %.

- 20 Beispiel 11:

β -Cyclodextrin-Isopropylchlorid-Einschlußverbindung:

- 25 100 ml gesättigte β -Cyclodextrin-Lösung (1,8%ig) wird auf 10° C gekühlt und mit 3 ml Isopropylchlorid versetzt. Unter ständigem Rühren im Ultraschallbad wird der entstehende schwerlösliche Komplex ausgefällt. Durch Gefriergetrocknen und Filtrieren wird der Niederschlag in kristalliner Form erhalten. Isopropylchloridgehalt nach GC-Bestimmung: 0,5 %.
- 30

Beispiel 12:

...

β -Cyclodextrin-Isopentan-Einschlußverbindung:

100 ml gesättigte β -Cyclodextrin-Lösung (1,8%ig) wird
auf 10° C gekühlt und mit 3 ml Isopentan versetzt. Unter
5 ständigem Rühren im Ultraschallbad wird der entstehende
schwerlösliche Komplex ausgefällt. Durch Gefriertrocknen
und Filtrieren wird der Niederschlag in kristalliner
Form erhalten.

10

Beispiel 13:

Xenon/ α -Cyclodextrin-Einschlußverbindungen:

15 In einem 200-cm³-Autoklaven werden 100 ml gesättigte
 α -Cyclodextrin-Lösung (ca. 12%ig) unter 7 Atmosphären
Xenon 7 Tage lang bei Zimmertemperatur inkubiert. Das
kristalline Addukt kann abgesaugt, mit kaltem Wasser
gewaschen und im Exsikkator über Calciumchlorid ge-
20 trocknet werden.

Beispiel 14:

25 Kohlendioxid/ α -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

In einem 200cm³-Autoklaven werden 100 ml gesättigte
 α -Cyclodextrin-Lösung (ca. 12 %ig) unter 7 Atmosphären
Kohlendioxid 7 Tage lang bei Zimmertemperatur inku-
30 biert. Das kristalline Addukt kann abgesaugt, mit kal-
tem Wasser gewaschen und im Exsikkator über Calcium-
chlorid getrocknet werden.

...

Beispiel 15:Isopentanol/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

- 5 15 ml 20-%ige Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Lösung wurden bei 10°C mit 2 ml Isopentanol versetzt, im Ultraschallbad 3 min beschallt und danach für 26 Stunden inkubiert. Der entstandene Komplex bleibt in Lösung.

10 Beispiel 16:

Isopren/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

- 15 15 ml 20-%ige Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Lösung werden bei 10°C mit 2 ml Isopren versetzt, im Ultraschallbad 3 min beschallt und danach für 26 Stunden inkubiert. Der entstandene Komplex bleibt zum Teil in Lösung und fällt zu einem Teil als weißer Niederschlag aus.
- 20

Beispiel 17:

25 Furan/Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

- 15 ml 20-%ige Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin-Lösung werden bei 10°C mit 2 ml Furan versetzt, im Ultraschallbad 3 min beschallt und danach für 26 Stunden inkubiert.
- 30 Der entstandene Komplex bleibt zum Teil in Lösung und fällt zu einem Teil als weißer Niederschlag aus.

...

Beispiel 18:Isopentan/ α -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

5 20 ml gesättigte α -Cyclodextrin-Lösung werden mit 1 ml
Isopentan versetzt und im Ultraschallbad 3 min be-
schallt. Der entstehende schwerlösliche Komplex wird
durch Filtration gewonnen und über Calciumchlorid ge-
trocknet.

10

Beispiel 19:Isopren/ α -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

15

20 ml gesättigte α -CD-Lösung werden mit 1 ml Isopren
versetzt und im Ultraschallbad 3 min beschallt. Der ent-
stehende schwerlösliche Komplex wird durch Filtration
gewonnen und über Calciumchlorid getrocknet.

20

Beispiel 20:Furan/ α -Cyclodextrin-Einschlußverbindung:

25

20 ml gesättigte α -Cyclodextrin-Lösung werden mit 1 ml
Furan versetzt und im Ultraschallbad 3 min beschallt.
Der entstehende schwerlösliche Komplex wird durch
Filtration gewonnen und über Calciumchlorid getrocknet.

30

...

- 17 -

Beispiel 21:

In einem Inkubationsgefäß werden zu 100 ml ges. α -Cyclodextrin-Lösung (5°C) unter Beschallung im Ultraschallbad 4 g Eukalyptol zugetropft und für weitere 30 min beschallt. Danach wird der Ansatz 48 Stunden in einem gekühlten, geschlossenen Gefäß geschüttelt. Der entstandene Niederschlag wird durch Filtration gewonnen, mit kaltem Ethanol gewaschen, in fl. N₂ eingefroren und gefriergetrocknet.

Beispiel 22:

100 ml ges. β -Cyclodextrin-Lösung werden mit 2 g Geraniol bei 5°C 4 h im Ultraschallbad beschallt und danach für 24 h bei 5°C inkubiert. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, mit kaltem Ethanol gewaschen, in fl. N₂ eingefroren und gefriergetrocknet.

20

Für die Beispiele 17 - 22 gilt:

Der kristalline Niederschlag wird nach dem Reinigen in einem geeigneten wäßrigen Medium, vorzugsweise physiologischer Kochsalz-, Glukose- oder Ringerlösung aufgenommen und ist dann injektionsfähig.

30

...

Patentansprüche

1. Ultraschallkontrastmittel bestehend aus Mikropartikeln

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikropartikel aus Amylosen und einem Gas und/oder einer organischen Flüssigkeit mit einem Siedepunkt unter 60 ° C oder aus synthetischen bioabbaubaren Polymeren und einem Gas und/oder einer Flüssigkeit mit einem Siedepunkt unter 60 ° C bestehen.

2. Ultraschallkontrastmittel nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikropartikel als Amylosen Cyclodextrine oder Cyclodextrinderivate enthalten.

3. Ultraschallkontrastmittel nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikropartikel als synthetische bioabbaubare Polymere Polyester von α , β , γ oder ϵ -Hydroxycarbonsäuren, Polyalkylcyanoacrylate, Polyaminosäuren,

...

Polyamide, polyacrylierte Saccharide oder Polyortho-
ester enthalten.

4. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der
5 Ansprüche 1 - 3,

dadurch gekennzeichnet, daß

- 10 die Mikropartikel als organische Flüssigkeiten mit
einem Siedepunkt unter 60° C

- 1.1-Dichlorethylen,
2-Methyl-2-buten,
15 Isopropylchlorid,
2-Methyl-1.3-butadien,
2-Butin,
2-Methyl-1-buten,
Dibromdifluormethan,
20 Furan,
3-Methyl-1-buten,
Isopentan,
Diethylether,
3.3-Dimethyl-1-butin,
25 Dimethylaminoacetone,
Propylenoxid,
N-Ethylmethylamin,
Brommethan,
30 N-Ethyldimethylamin,
Methylenchlorid,
Pentan,
Cyclopentan,

...

2.3.-Pentadien,
Cyclopenten

oder deren Gemische enthalten.

5

5. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der
Ansprüche 1 - 3,

10

dadurch gekennzeichnet, daß

die Mikropartikel als Gase

15

Luft,

Edelgase,

Stickstoff,

Sauerstoff,

Kohlendioxid,

Wasserstoff,

20

Ammoniak,

Ethylen,

Methan,

Ethan,

25

Propan oder

Butan

oder deren Gemische enthalten.

30

6. Ultraschallkontrastmittel nach 1,

dadurch gekennzeichnet, daß

...

die Mikropartikel ätherische Öle enthalten.

7. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2 und 4 - 6,

5

dadurch gekennzeichnet, daß

10

die aus Amylosen bestehenden Mikropartikel mit einer hydrophoben Hüllsubstanz bestehend aus Ölen, Fetten und/oder oberflächenaktiven Substanzen überzogen und in wäßrigem Medium suspendiert sind.

8. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der Ansprüche 1, 2 und 4 - 7,

15

dadurch gekennzeichnet, daß

20

die aus Amylosen bestehenden Mikropartikel von einer Matrix, insbesondere polymerer Struktur, umhüllt sind.

9. Ultraschallkontrastmittel nach mindestens einem der Ansprüche 1 - 8,

25

dadurch gekennzeichnet, daß

30

durch Zugabe osmotisch aktiver Substanzen, insbesondere Kochsalz, Mannit, Galaktose, Glukose, Fruktose, die physiologische Isotonie eingestellt ist.

10. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkontrast-

...

mitteln mit Mikropartikeln aus synthetischen bioabbau-
baren Polymeren nach einem der Ansprüche 1 oder 3 -
5,

5 dadurch gekennzeichnet, daß

ein Polymer oder Copolymer in einem oder mehreren,
mit Wasser nicht mischbaren, organischen Lösungs-
mitteln gelöst und anschließend ggf. nach Zusatz
10 eines weiteren Lösungsmittels in Wasser emulgiert
wird und die erhaltene Emulsion anschließend fil-
triert, ggf. getrocknet wird.

15 11. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkontrast-
mitteln mit Mikropartikeln aus synthetischen bioabbau-
baren Polymeren nach einem der Ansprüche 1 oder 3 -
5,

20 dadurch gekennzeichnet, daß

ein Polymer oder Copolymer in einem oder mehreren,
Gasblasen enthaltenden Lösungsmittel-gelöst und an-
schließend ggf. nach Zusatz eines weiteren
25 Lösungsmittels oder eines weiteren Polymeren ausge-
fällt oder in Wasser emulgiert und die erhaltene
Suspension oder Emulsion anschließend filtriert, ggf.
getrocknet wird.

30 12. Verfahren nach Anspruch 10 -oder 11,

dadurch gekennzeichnet, daß

...

als Lösungsmittel Furan, Pentan, Aceton, Dioxan, Ethylacetat, p-Xylol, Methylenchlorid, Cyclohexan oder n-Hexan oder ein daraus bestehendes Lösungsmittelgemisch verwendet wird.

5

13. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11,

dadurch gekennzeichnet, daß

10

der Emulsion ein Emulgator zugesetzt wird.

14. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkontrastmitteln mit Mikropartikeln aus synthetischen, bioabbaubaren Polymeren nach einem der Ansprüche 1 und/oder 3 - 6,

15

dadurch gekennzeichnet, daß

20

ein Monomer in einem oder mehreren organischen Lösungsmitteln gelöst und in 5 - 30 Teilen Wasser oder 0,01 - 0,1 N Salzsäure ggf. unter Zusatz von Emulgatoren oder Puffersubstanzen bei einer Temperatur unterhalb des Siedepunkts des organischen Lösungsmittels emulgiert wird und dieser Emulsion eine 0,2% - 20%ige wäßrige Lösung eines zweiten Monomeren oder ggf. die Lösung einer pH-Wert erhöhenden Substanz zugegeben und ggf. getrocknet wird.

25

30

15. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkontrastmitteln mit Mikropartikeln aus synthetischen, bioab-

...

baubaren Polymeren nach einem der Ansprüche 1 und/oder 3 - 6,

dadurch gekennzeichnet, daß

5

ein Monomer in einer oder mehreren, gasblasenenthaltenden Flüssigkeiten ggf. unter Zusatz von Emulgatoren und/oder Puffersubstanzen gelöst oder dispergiert wird und dieser Lösung oder Dispersion ggf. eine 0,2% - 20%ige Lösung eines zweiten Monomeren oder eine pH-Wert erhöhende Substanz in gelöster oder gasförmiger Form zugegeben und ggf. getrocknet werden.

10

15

16. Verfahren nach Anspruch 14 oder 15,

dadurch gekennzeichnet, daß

20

als erstes Monomer Terephthaloyl- oder Sebacoylchlorid oder Cyanacrylsäureester, als zweites Monomer L-Lysin und als organisches Lösungsmittel 2-Methyl-1.3-butadien, Methylenchlorid, Toluol, Dioxan oder Cyclohexan verwendet wird.

25

17. Verfahren zur Herstellung von Ultraschallkontrastmittel mit Mikropartikeln aus synthetischen bioabbaubaren Polymeren nach einem der Ansprüche 1 und/oder 3 - 6,

30

dadurch gekennzeichnet, daß

...

5 in einer 0,5--10%igen wäßrigen Lösung eines Monomeren, die ggf. Zusätze wie Emulgatoren (0,01 - 5 %) oder Quasiemulgatoren (0,1 - 5 %) enthält, Gasblasen erzeugt und danach eine quervernetzende Substanz und/oder ein Reaktionsstarter zugesetzt werden.

10 18. Verwendung der Ultraschallkontrastmittel nach einem Ansprüche 1 - 9 für diagnostische oder therapeutische Verfahren.

15

20

25

30

...

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/DE 89/00069

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) * According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl.4 A 61 K 49/00						
II. FIELDS SEARCHED <div style="text-align: center; border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">Minimum Documentation Searched ⁷</div> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 25%; border-bottom: 1px solid black;">Classification System</td> <td style="border-bottom: 1px solid black;">Classification Symbols</td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">Int.Cl.4</td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;">A 61 K ; A 61 B</td> </tr> </table> <div style="text-align: center; border-top: 1px solid black; border-bottom: 1px solid black;">Documentation Searched other than Minimum Documentation to the extent that such Documents are included in the Fields Searched *</div>			Classification System	Classification Symbols	Int.Cl.4	A 61 K ; A 61 B
Classification System	Classification Symbols					
Int.Cl.4	A 61 K ; A 61 B					
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT *						
Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³				
A	EP, A, 0123235 (SCHERING AG) 31 October 1984 see the whole document, in particular page 6, lines 19-21; page 7, lines 7-11 cited in the application ---	1, 2, 5-9, 18				
A	WO, A, 80/02365 (RASOR ASSOCIATES, INC.) 13 November 1980 see claims ---	1-18				
A	FR, A, 2429616 (DOW CORNING CORP) 25 January 1980 see page 18, example 4 ---	1				
A	FR, A, 2496460 (CHINOIN GYOGYSZER- ES VEGYESZETI TERMEKEK GYARA RT) 25 June 1982 see pages 6-8, examples 1-5 ---	1, 6				
A	DE, A, 3341001 (KRAUSE et al) 23 May 1985 see the whole document ---	1, 3, 10-17				
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>						
IV. CERTIFICATION						
Date of the Actual Completion of the International Search <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">12 May 1989 (12.05 89)</div>	Date of Mailing of this International Search Report <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">12 June 1989 (12.06.89)</div>					
International Searching Authority <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">European Patent Office</div>	Signature of Authorized Officer <div style="border: 1px solid black; height: 40px;"></div>					

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

DE 8900069

SA 26583

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 06/06/89. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0123235	31-10-84	DE-A- 3313947	18-10-84
		AU-B- 569072	21-01-88
		AU-A- 2680684	18-10-84
		CA-A- 1232837	16-02-88
		DE-A- 3473829	13-10-88
		JP-A- 59205329	20-11-84
WO-A- 8002365	13-11-80	US-A- 4276885	07-07-81
		AU-A- 6053580	20-11-80
		CA-A- 1171952	31-07-84
		EP-A- 0028253	13-05-81
FR-A- 2429616	25-01-80	US-A- 4370160	25-01-83
		AU-B- 524895	07-10-82
		AU-A- 4790879	03-01-80
		CA-A- 1129373	10-08-82
		DE-A, C 2925305	03-01-80
		GB-A, B 2026513	06-02-80
		JP-A- 55005787	16-01-80
		JP-A- 60106837	12-06-85
FR-A- 2496460	25-06-82	JP-A- 57123114	31-07-82
DE-A- 3341001	23-05-85		

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen **PCT/DE 89/00069**

I. KLASSEFIZKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁵		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int. Cl. 4. A 61 K 49/00		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int. Cl. 4	A 61 K; A 61 B	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN⁹		
Art*	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. 13
A	EP, A, 0123235 (SCHERING AG) 31. Oktober 1984 siehe das ganze Dokument, insbesondere Seite 6, Zeilen 19-21; Seite 7, Zeilen 7-11 in der Anmeldung erwähnt --	1, 2, 5-9, 18
A	WO, A, 80/02365 (RASOR ASSOCIATES, INC.) 13. November 1980 siehe die Patentansprüche --	1-18
A	FR, A, 2429616 (DOW CORNING CORP.) 25. Januar 1980 siehe Seite 18, Beispiel 4 --	1
A	FR, A, 2496460 (CHINOIN GYOGYSZER- ES VEGYESZETI TERMEKEK GYARA RT) 25. Juni 1982 siehe Seiten 6-8; Beispiele 1-5 --	1, 6
./.		
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"G" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p> </div> </div>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 12. Mai 1989		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 12 JUN 1989
Internationale Recherchenbehörde Europäisches Patentamt		Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten P. C. G. VAN DER PUTTEN

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art *	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE, A, 3341001 (KRAUSE et al.) 23. Mai 1985 siehe das ganze Dokument -----	1,3,10-17

ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.

DE 8900069

SA 26583

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.

Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 06/06/89

Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A- 0123235	31-10-84	DE-A- 3313947	18-10-84
		AU-B- 569072	21-01-88
		AU-A- 2680684	18-10-84
		CA-A- 1232837	16-02-88
		DE-A- 3473829	13-10-88
		JP-A- 59205329	20-11-84
WO-A- 8002365	13-11-80	US-A- 4276885	07-07-81
		AU-A- 6053580	20-11-80
		CA-A- 1171952	31-07-84
		EP-A- 0028253	13-05-81
FR-A- 2429616	25-01-80	US-A- 4370160	25-01-83
		AU-B- 524895	07-10-82
		AU-A- 4790879	03-01-80
		CA-A- 1129373	10-08-82
		DE-A, C 2925305	03-01-80
		GB-A, B 2026513	06-02-80
		JP-A- 55005787	16-01-80
		JP-A- 60106837	12-06-85
FR-A- 2496460	25-06-82	JP-A- 57123114	31-07-82
DE-A- 3341001	23-05-85	Keine	

EPO FORM P473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82